

Aus dem Röntgeninstitut der Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. H. R. Schinz
Arbeit unter Leitung von P.D. Dr. Hedi Fritz-Niggli

Die Wirkung von Röntgenstrahlen verschiedener Dosis auf das Regenerations- vermögen des Schwanzes von *Xenopus*larven

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von

DAVID PESTALOZZI

von Zürich

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. H. R. Schinz
und von P.D. Dr. Hedi Fritz-Niggli

Zürich 1954



Verlag von S. Karger in Basel



Sonderdruck aus «Oncologia» Vol. VI, No. 3 (1953)

Meinem Bruder
Carlo E. Pestalozzi
gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507226_0051

Einleitung und Fragestellung

In verschiedenen Untersuchungen konnte besonders an Amphibien gezeigt werden, daß die Röntgenstrahlen eine deutliche Wirkung auf das regenerierende Gewebe und das Regenerationsvermögen ausüben. So behandelten *Scheremetjewa* und *Brunst*¹⁰ die Schwänze von Larven von *Pelobates fuscus* und konnten eine partielle Regenerationshemmung bzw. bei höhern Dosen sogar einen Regenerationsstopp feststellen, ebenso wie *Brunst*² eine Hemmung der regenerierenden Extremitäten von Urodelen erzielte.

Wir versuchten in unserer Arbeit, die Abhängigkeit der Röntgeneffekte auf das Regenerationsvermögen von der Dosis zu untersuchen. Gleichzeitig wollten wir abklären, ob die beobachteten Veränderungen in einer so charakteristischen Weise von der Dosis abhängen, daß sich damit ein Test zum Vergleich der Effekte von Röntgenstrahlen verschiedener Qualität ausarbeiten ließe; im Rahmen der in unserem Institute durchgeführten Forschungen über die Wirkung der 31 MeV-Betatronstrahlen erwies es sich nämlich als notwendig, gut beobachtbare Strahleneffekte für biologische vergleichende Messungen heranzuziehen.

Ein biologischer Test erfordert ein leicht zu beschaffendes Versuchsobjekt, das während des ganzen Jahres zur Verfügung steht, einfach zu halten ist, in relativ kurzer Zeit regeneriert und ohne Schwierigkeiten auch mikroskopisch jederzeit in vivo beobachtet werden kann. Alle diese Bedingungen werden in hervorragender Weise vom regenerierenden Schwanz der Larven des südafrikanischen Krallenfrosches *Xenopus laevis* Daudin erfüllt, der in den letzten Jahren auch in der Schweiz eine immer größere Bedeutung als Laboratoriumstier erlangt hat (vgl. *Ochsé*⁹).

Lüscher^{5, 6, 7} studierte bei diesen Larven eingehend die normale Regeneration der Schwanzspitze und ihre Bedingungen, um dann die Wirkung von Colchicin daran zu erforschen. Um einen allfälligen Test nicht zu sehr zu komplizieren, wurden bei den vorliegenden Arbeiten nur leicht faßbare morphologische Veränderungen verwertet und auf eingehende zytologische Untersuchungen verzichtet.

An dieser Stelle möchte ich meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. med. *H. R. Schinz*, Direktor des Röntgeninstitutes der Universität Zürich, für die großzügige Überlassung von Material und Arbeitsplatz, sowie der Leiterin des strahlenbiologischen Forschungslaboratoriums, Frau P. D. Dr. *H. Fritz-Niggli*, für die Leitung und Betreuung dieser Arbeit, zu welcher sie mich angeregt hatte, meinen herzlichsten Dank aussprechen.

I. Material und Methodik

Die Larven von *Xenopus laevis* Daudin waren im strahlenbiologischen Laboratorium nach den Angaben von *Ochsé*⁹ selbst gezüchtet worden. Sie befanden sich während der Dauer der Arbeit nach *Weisz*¹¹ im «second form tadpole stage» (d. h. in dem Stadium, wo die Mundöffnung durchgebrochen ist, die Hinterbeinanlagen aber noch nicht erkennbar sind) oder im Anfang des 3. Larvenstadiums, wo die Hinterbeinanlagen als Knospen sichtbar sind.

Während der Versuche, die in den Monaten November bis Februar stattfanden, wurden die Tiere einzeln gehalten; die kleineren in Halbrundschalen von etwa 30 ccm Inhalt, die größeren in zylindrischen Schalen von 5 cm Durchmesser und 4 cm Höhe. Zur Kontrolle der Regeneration und allfällig eingetretener Veränderungen wurden sie nach Möglichkeit täglich beobachtet und erhielten dabei frisches Wasser und Futter (nach der von *Ochsé*⁹ angegebenen Methode zubereitetes Brennesselpulver). Bei den Versuchen mit 1000 und 2000 r (bis 5. Tag) blieben die Tiere bei Zimmertemperatur (im Mittel 19 °, minimal 16 °, maximal 21 ° C) und Tageslicht auf dem Arbeitsplatz stehen. Da es sich jedoch erwies, daß diese Temperatur zu gering war, um eine normale Regeneration zu gewährleisten (nach *Lüscher*⁵ liegt die kritische Temperatur bei 18 ° C), wurden sie in einen Wärmeschrank verbracht bei konstanter Temperatur von 21 ° C und Dunkelheit.

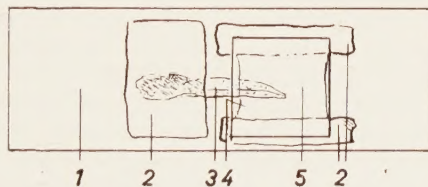
Bei Versuchstieren möglichst gleicher Länge (im Mittel 20 mm), und desselben Larvenstadiums wurde nun in Narkose (siehe unten) ein 3 mm langes Stück der Schwanzspitze abgeschnitten, die Tiere anschließend gezeichnet und noch am gleichen Tage (d. h. nach etwa 6 Stunden) bestrahlt, und zwar je 10 Tiere mit 1000, 1500, 2000, 3000 und 4000 r, während je 3 weitere Tiere als Kontrollen dienten.

Als *Narkoselösung* diente zuerst Trichlor-Isobutylalkohol, 1 ccm der 1⁰/₁₀₀ Verdünnung auf 20 ccm Wasser. Die Wirkung war aber sehr ungleichmäßig: viele Tiere bewegten sich noch nach 10 Minuten, andere wurden zwar schon früher bewegungslos, starben aber oft, wenn die Narkose länger als 15 Minuten dauerte. Daher wurde künftig MS 222, welches uns die Firma Sandoz AG. in Basel freundlicherweise zur Verfügung stellte, verwendet. Die von *Bretscher*¹ und *Lüscher*⁵ verwendete Konzentration von 1:7000, resp. 1:14 000 erwies sich als zu stark, eine solche von 1:17 500 jedoch als genügend, um die Tiere die ersten zwei bis drei Male nach 3 Minuten und später nach 5–6 Minuten zu immobilisieren (offenbar trat mit der Zeit eine gewisse Gewöhnung an das Mittel ein).

Sobald die Tiere bewegungslos waren, wurden sie mit möglichst wenig Flüssigkeit auf paraffiniertem Millimeterpapier unter das Binocular gebracht und ihnen mit einem scharf geschliffenen Skalpell 3 mm der Schwanzspitze abgeschnitten. Daraufhin kamen sie nochmals kurz in die Narkoselösung zurück und erst dann auf einen Objektträger. Der Kopf wurde mit einem in Narkoselösung getränkten Filterpapierstreifen bedeckt (was im Gegensatz zu den Beobachtungen von *Bretscher*¹ gut ertragen wurde), während der Schwanz in eine mit Narkoselösung gefüllte Kammer gebracht wurde (vgl. Abb. 1). Auf diese Weise konnten die Tiere bis zu einer halben Stunde – auch bei starker Vergrößerung – beobachtet werden, ohne daß sie Schaden litten. Gelegentlich traten (wahrscheinlich infolge beginnender Austrocknung) Stockungen in der Blutzirkulation auf, die jedoch durch Aufträufeln einiger Tropfen Narkoselösung auf den Kopf rasch zurückgingen.

Abb. 1. Versuchsanordnung für die Beobachtung.

Legende: 1 Objektträger; 2 Filterpapierstreifen; 3 Versuchstier; 4 Kammer, mit Narkoselösung gefüllt; 5 Deckglas.



Zur *Beobachtung* wurden die Tiere in der angegebenen Weise narkotisiert, auf einen Objektträger gebracht und mit einem mikroskopischen Zeichnungsapparat, meistens bei 50facher Vergrößerung, gezeichnet. Die *Ausmessung* der Zeichnungen und damit der Regenerate erfolgte mit einem Maßstab, der durch Übertragen der Skala eines Objektmikrometers auf Millimeterpapier, bei gleicher Vergrößerung und Abstand des Zeichenapparates wie für die Zeichnungen, angefertigt worden war. Die Genauigkeit betrug dabei $\pm 0,05$ mm.

Es erwies sich als notwendig, die Tiere nach der Beobachtung bis zum Erwachen (was meistens etwa 5 Minuten dauerte) in ein großes Glas frischen Wassers mit Luftzufuhr und erst dann in ihr eigenes Gefäß zurückzubringen.

Die *Bestrahlung* wurde mit einer 180 kV Stabilivolt-Anlage mit 6 mA, 1 mm Cu-Filterung und 30, resp. 20 cm FWA * (= 49,2 resp. 110,7 r/min) durchgeführt. Die Tiere wurden total bestrahlt in einem runden, wasser-gefüllten Plexiglasbehälter, welcher durch paraffinierte Kartonstreifen so unterteilt war, daß jedes Tier ein Segment zur Verfügung hatte (vgl. Abb. 2).

II. Beschreibung der Versuche

A. Die normale Regeneration des Schwanzes von *Xenopus-laevis*-Larven **

Als Material dienten die jedem Versuche parallel laufenden Kontrollen (insgesamt 14 Tiere) sowie ein Vorversuch mit 10 Tieren.

Direkt nach dem Schnitt traten in den meisten Fällen Blutungen aus der ventralen Schwanzarterie, z. T. auch aus der dorsalen Vene auf. Chorda (CH) und Neuralrohr (NR) überragten schon nach kurzer Zeit die Schnittfläche. Die Melanophoren waren nur wenig ausgebreitet.

Am 1. Tag (24 Stunden nach Schnitt) ist der Defekt mit Epithel bedeckt. Bei vielen Tieren hat sich, vorwiegend in der Fortsetzung der Achsenorgane (CH, NR und Muskulatur), zum Teil aber auch an den Flossensäumen, ein kleines Regenerat gebildet. Es besteht aus einem regelmäßigen Epithel, dessen äußerste Zellschicht oftmals zahlreiche, stark lichtbrechende Einschlüsse aufweist.

2. Tag. Die Regeneration hat nun durchgehend auch an den Flossensäumen eingesetzt. CH und NR beginnen ins Regenerat vorzuwachsen; das übrige Gewebe ist noch nicht weiter differenziert. Der Chordastumpf ist bräunlich verfärbt und getrübt, das Pigment an dieser Stelle vermehrt, wodurch das ganze Gebiet dunkler getönt erscheint.

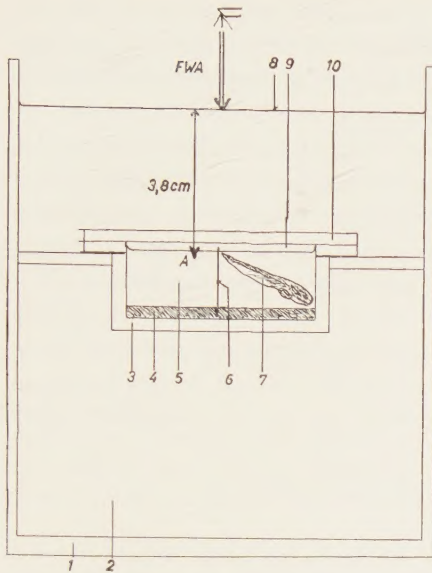
3. Tag. Die Chorda, teilweise leicht verkrümmt oder dorsal gebogen, und das NR sind ins Regenerat vorgewachsen. Die Regenerate sind soweit ausgewachsen, daß ihre Spitze einen rechten Winkel bildet.

4. Tag. Die Regeneratsspitzen bilden nun einen spitzen Winkel, CH und NR sind wieder gerade gestreckt. Die Verfärbung des Chordastumpfes persistiert noch; im übrigen sind, besonders den Achsenorganen entlang, zahlreiche, stark ausgebreitete Melanophoren aufgetreten. In mehreren Regeneraten haben sich Vakuolen (d. h. zellarme Stellen, gebildet, die aber am

5. Tag nicht mehr vorhanden sind. Außer den Melanophoren haben sich jetzt auch die sternförmigen Mesenchymzellen gebildet, welche am Stumpf die ganze Breite des Regenerates einnehmen, gegen die Spitze hin jedoch immer schmaler werden. Im übrigen

* FWA = Abstand Brennfleck (Focus)-Wasseroberfläche, der aus technischen Gründen leichter zu messen war als der üblicherweise angegebene Focus-Haut-Abstand (FHA). Dieser betrug in bezug auf die Schwanzspitze 3,8 cm mehr als der FWA (Punkt A in Abb. 2, auf welchen sich auch die Dosisangaben beziehen).

** Vgl. Tafel I.



Bestrahlungskammer von oben gesehen

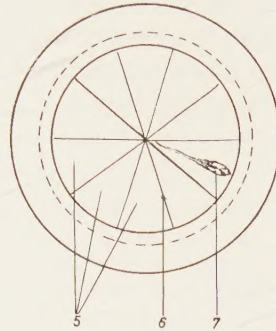


Abb. 2. Versuchsanordnung für die Bestrahlung. FWA = Abstand Focus-Wasserspiegel (20–30 cm); A = Punkt in welchem die Strahlendosis gemessen wurde. Legende: 1 Plexiglasbehälter; 2 Wasser; 3 Bestrahlungskammer aus Plexiglas; 4 Boden aus Paraffin; 5 abgeteilte Segmente; 6 Scheidewände aus paraffiniertem Karton; 7 Versuchstier in typischer Lage; 8 Wasserspiegel; 9 Luftraum in Bestrahlungskammer; 10 Deckel der Bestrahlungskammer (Plexiglas)

sind die Regenerate völlig regelmäßig weiter ausgewachsen, ebenso am 6. Tag (vgl. Abb. 10, Seite 173).

7. Tag. Nachdem die Regenerate nochmals stark in die Länge gewachsen sind und sich die Mesenchymzellen bis an den Rand hin ausgebreitet haben, lassen sie sich nur noch an leichten Stufen in den Flossensäumen und durch die fehlende Querstreifung der Muskulatur vom normalen Gewebe unterscheiden.

8.–10. Tag. Bei den meisten Tieren läßt sich die Regeneratsgrenze nicht mehr feststellen. Gelegentlich auftretende Unregelmäßigkeiten der Konturen sind am folgenden Tage immer wieder ausgeglichen. – Die Kontrolltiere werden nicht mehr weiter beobachtet; es leben alle weiter und metamorphosieren normal.

Die am 10. Tage gemessene Regeneratslänge beträgt 1,5–1,8 mm, also etwas mehr als die Hälfte der ursprünglichen Schwanzlänge.

Zusammenfassung

Bei den nicht bestrahlten Tieren ist der Defekt am 1. Tage epithelisiert, und es hat sich bereits ein kleines Regenerat aus regelmäßigem Epithelgewebe gebildet. Am 2. Tag hat die Regeneration auch an den Flossensäumen begonnen; die Partie um den Chordastumpf ist bräunlich ver-

färbt. Am 3. Tag Vordringen von CH und NR ins Regenerat. Die Regenerate sind rechtwinklig. 4. Tag: CH und NR, welche etwas verkrümmt waren, sind wieder gerade. Es treten zahlreiche Melanophoren auf. Am 5. Tag sternförmige Mesenchymzellen (M. Z.) im Regenerat. In der folgenden Zeit starkes Längenwachstum, Vordringen der Mesenchymzellen bis zum Rande und – vom 8. Tage an – Unmöglichkeit, die Regeneratsgrenze zu erkennen. Unsere Beobachtungen stimmen im wesentlichen mit denen von *Lüscher*⁵ überein und zeigen, daß normalerweise Chorda, Neuralrohr, Muskulatur und Epidermis vollständig regenerieren.

B. Versuch mit 1000 r (vgl. Tafel II)

Die durchschnittliche Länge der zehn Versuchs- und der zwei Kontrolltiere, welche sich alle im 2. Larvenstadium befanden, betrug 15 mm. Die Bestrahlung erfolgte sechs Stunden nach Abschneiden der Schwanzspitze (FWA * 30 cm, 1 mm Cu-Filter, 49,2 r/min = 20,3 min. Bestrahlungsdauer; 180 kV Stabilivolt, 6 mA) und wurde von allen Tieren gut ertragen.

Am folgenden Tage ist bei sieben Tieren die Wunde mit Epithel bedeckt, während die andern drei noch Spuren der nach dem Schnitt eingetretenen Blutung zeigen. Um den Chordastumpf hat sich ein kleines Regenerat gebildet, das aus einem regelmäßigen epithelialen Zellverband besteht. Die Zone des Stumpfes hat eine dunklere Färbung als das übrige Gewebe.

2. Tag. Die Regeneration hat nun auch an den Flossensäumen begonnen, jedoch in geringerem Maße als in der Chordalinie, wo das Regenerat bei mehreren Tieren spitz nach hinten ausgewachsen ist. In einem Fall hat im Bereiche des dorsalen Flossensaums noch gar keine Regeneration stattgefunden.

3. Tag. Die Regenerate sind gewachsen, die Flossensäume bilden aber immer noch einen stumpfen Winkel. Chorda und Neuralrohr beginnen sich abzuzeichnen, beide allerdings noch sehr unscharf, im Gegensatz zu den Kontrollen, wo die Chorda deutlich als kompakter Zellstrang erkennbar ist.

4. Tag. Die Regenerate sind nun spitzwinklig geworden, zeigen aber noch Stufen in den Flossensäumen, welche bei acht Tieren dorsal deutlicher ausgeprägt sind als ventral. Bei vier dieser Tiere ist das Regenerationsgewebe etwas unruhig; die Spitzen der Regenerate enthalten einige runde Zellen, welche größer sind als die umliegenden Epithelzellen, nicht in epithelialem Verbande stehen und stark lichtbrechende Einschlüsse enthalten. Mit Ausnahme eines Tieres sind CH und NR jetzt bei allen deutlich ausdifferenziert und weisen keine Anomalien mehr auf.

6. Tag. Der im wesentlichen abgeschlossene Regenerationsvorgang ist in reines Längenwachstum übergegangen. An den Flossensäumen besteht in den meisten Fällen dorsal und ventral noch eine deutliche Stufe. NR und CH reichen bis an die Spitze der Regenerate, an welchen letzteren die ehemalige Schnittstelle sowie die am 4. Tage beobachteten Veränderungen nicht mehr zu erkennen sind. Die Tiere werden daher nur am 18. Tage noch einmal kontrolliert.

18. Tag. An den Flossensäumen der überlebenden sechs Tiere ist die Regeneratsgrenze

* Vgl. Fußnote auf Seite 164.

noch deutlich erkennbar. Die Regenerate sind etwas verkrümmt, haben keine glatten Konturen und weisen verschmälerte Flossensäume auf. Die Achsenorgane sind ebenfalls weniger kräftig ausgebildet als bei den Kontrollen.

Zusammenfassung

Die Regeneration nach Bestrahlung mit 1000 r verläuft anfänglich normal, nur etwas langsamer als bei den Kontrollen. CH und NR sind zuerst nur undeutlich abgezeichnet. Am 4. Tage Gewebsunruhe, die am 6. Tage wieder verschwunden ist. Nach 18 Tagen schmale und wenig kräftige Regenerate, deren Grenze an den Stufen in den Flossensäumen noch erkennbar ist. Während CH, NR und Epidermis vollständig regeneriert haben, ist das Muskelregenerat noch kaum über die Schnittstelle vorgewachsen.

C. Versuch mit 1500 r (vgl. Tafel III)

Dieser Versuch wurde als letzter durchgeführt, da sich zwischen den Versuchen mit 1000 r und 2000 r ein Unterschied ergeben hatte, welcher der Interpolation bedurfte. Die Tiere Nr. 1–5 waren im 3. Larvenstadium (mittlere Länge 28 mm), die übrigen, die aus einer jüngeren Zucht stammten, im 2. Larvenstadium (mittlere Länge 18 mm). Amputation und Bestrahlung (180 kV, 30 cm, FWA *, 1 mm Cu, 49,2 r/min. = 30,6 min. Bestrahlungsdauer) folgten sich im Abstand von sechs Stunden und wurden gut ertragen.

1. Tag. Bei den meisten Tieren hat sich um den Chordastumpf ein kleines Regenerat gebildet, welches aber nicht durchgehend regelmäßiges Epithelgewebe aufweist, sondern von Nestern großer, runder, teilweise blasiger Zellen durchsetzt ist, die mit stark lichtbrechenden Elementen verschiedener Größe (oft wie Lipoidtröpfchen aussehend) angefüllt sind und deren Kern meist nur undeutlich erkennbar ist. (Wie die bei 1000 r am 4. Tage beobachteten Zellen, jedoch zahlreicher.) An den Flossensäumen ist der Defekt mit einem Epithel bedeckt, dessen Zellen, besonders gegen die Mittellinie hin, ebenfalls vergrößert, blasig und aus dem epithelialen Verbands weitgehend gelöst sind.

2. Tag. Die Gewebsstruktur ist wieder weitgehend regelmäßig, die Wunden mit regelmäßigem Epithel verschlossen, die Regenerate weiter ausgewachsen und größer als diejenigen der Kontrollen. Auch CH und NR beginnen ins Regenerat vorzustoßen. Einem Tier wird der Schwanz verletzt, so daß er reamputiert werden muß.

3. Tag. Bei den Tieren Nr. 8 und 9 treten im Regenerat feine, normalerweise nicht vorhandene Strukturlinien auf. Die Zellen sind ungleich groß und beginnen sich wieder abzurunden und aus dem epithelialen Verbands zu lösen. CH und NR reichen bis an die Regeneratsspitze.

4. Tag. Bei den Tieren Nr. 3, 4, 5 zeigt sich in der Schnittzone des dorsalen Flossensaums eine Einkerbung (im folgenden kurz «dorsale Kerbe» genannt). (Vgl. Abbildungen 3 und 4.) Die Epidermis fehlt an dieser Stelle; die Begrenzung bilden palisadenartig angeordnete Zellen von unregelmäßiger Gestalt, die abgerundet und nur locker verbunden sind; diese Zellen gehen nach den Seiten und gegen die Achsenorgane hin allmählich in normales Gewebe über. Bei Tier Nr. 8, dessen Flossensäume noch nicht regeneriert haben,

* Vgl. Fußnote auf Seite 164.

Abb. 3



Abb. 4

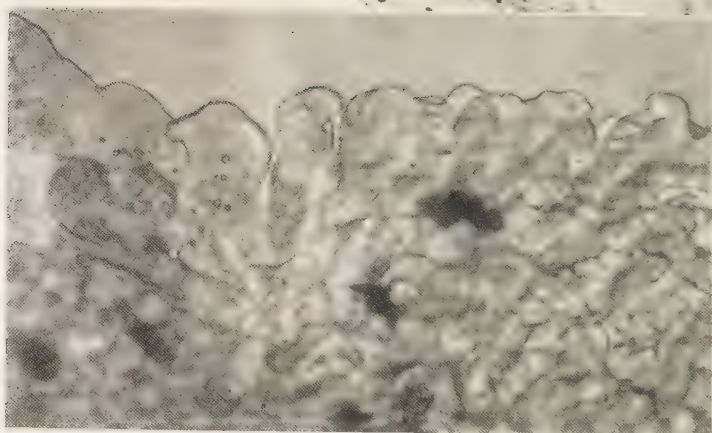


Abb. 3. Dorsale Kerbe bei 14tägigem Regenerat nach Bestrahlung mit 2000 r. Pigmentansammlung im NR und in der Regeneratsspitze. Verkrümmung der C. (Vergrößerung zirka 150fach).

Abb. 4. Dorsale Kerbe bei zirka 500facher Vergrößerung.

wird ein Teil der Regeneratsspitze abgestoßen, das übrige Gewebe ist im Zerfall. Tier Nr. 9 ist unverändert, stirbt aber.

6. Tag. Die Tiere 6, 7, 8 sind tot. Die «dorsale Kerbe» ist wieder zugeheilt, das Gewebe dort jedoch narbig verändert. Bei Nr. 1, 4, 10 treten wieder pathologische Strukturlinien auf; die Zellen lösen sich gegen die Spitze hin zunehmend mehr aus dem epithelialen Verbands und nehmen runde Gestalt an.

7. Tag. Die Veränderung an der Spitze hat zugenommen, die äußersten Zellschichten erscheinen teilweise blasig (d. h. man erkennt nur noch die Membranen). Es stoßen sich

ganze Gruppen von Zellen ab, wodurch die Regenerate verkürzt werden. Die normale Gewebsstruktur ist zerstört und der epitheliale Zellverband aufgelöst; nur um die Chorda sind noch einige normale polygonale Zellen zu erkennen (vgl. Abb. 5). Zwei weitere Tiere sterben, womit noch drei Tiere überleben. Nr. 2 (am 2. Tage reamputiert) hat nur auf der ventralen Seite wieder regeneriert. An der Spitze des Regenerats läßt sich besonders gut der Übergang der großen, runden Zellen mit den oben beschriebenen Einschlüssen (marginal gelegen) zum normalen, gesunden Epithelgewebe (im Innern des Regenerats und auch noch proximal) beobachten. Vgl. Abb. 5 und 6.

8. Tag. Die regressive Veränderung ist soweit fortgeschritten, daß jetzt der größte Teil des Regenerates locker zusammengefügte Schollen aufweist, welche ihrerseits aus zelligen Elementen bestehen (vgl. Abb. 7).

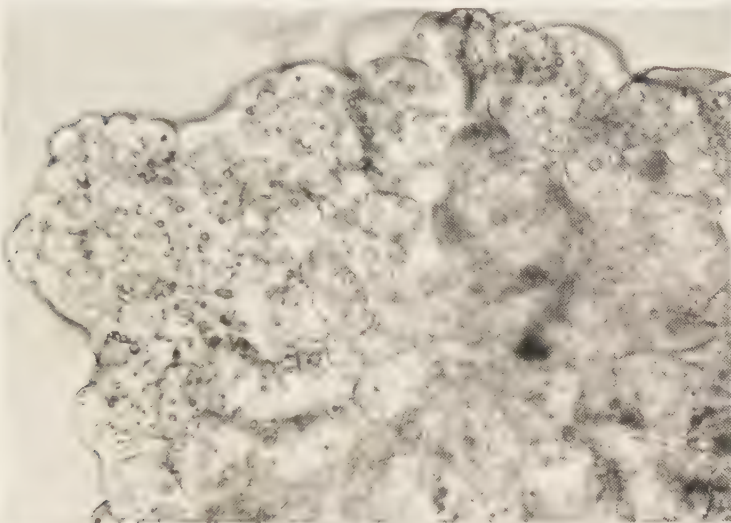


Abb. 5

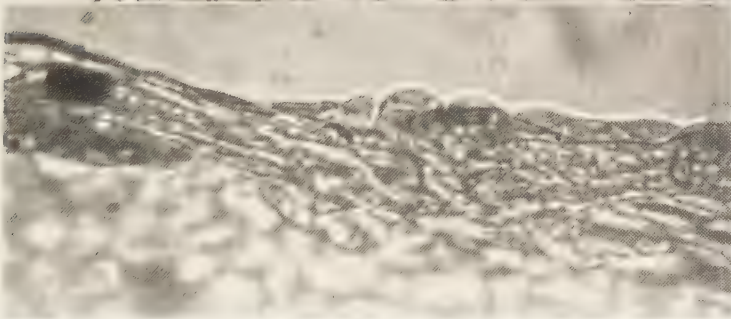


Abb. 6

Abb. 5. Regeneratspitze 7 Tage nach Bestrahlung mit 1500 r. Man beachte die nur noch im Zentrum erhaltene Epithel-Struktur sowie die großen blasigen Zellen mit stark lichtbrechenden Einschlüssen am Rande des Regenerates. (Vergrößerung zirka 500fach).

Abb. 6. Detailaufnahme des Überganges von normalem in blasig verändertes Epithel am dorsalen Flossensaum. (Vergrößerung zirka 500fach).

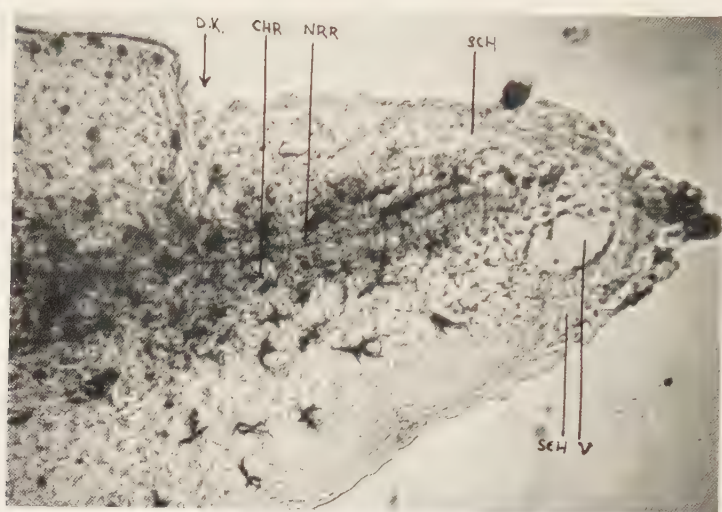


Abb. 7. Achttagiges Regenerat nach Bestrahlung mit 2000 r. Sch = Schollen; V = Vakuole. (Vergrößerung zirka 150fach).

10. Tag. Die Umrisse sind stark zerklüftet und statt der Schollen vom 8. Tage sind nun wieder Einzelzellen sichtbar. Auch die Achsenorgane sind betroffen; vom Chordaregenarat sind nur noch undeutliche Zellreste erkennbar. – Die letzten Tiere sterben am folgenden Tage, womit der Versuch beendet ist.

Zusammenfassung

24 Stunden nach Bestrahlung mit 1500 r treten bei allen Versuchstieren in den bereits gebildeten kleinen Regeneraten Nester von großen, runden Zellen mit vielen Einschlüssen auf, welche sich aus dem epithelialen Verbands gelöst haben. Am folgenden Tage Besserung des Zustandes. Am 3. Tage wieder leichte Unruhe des Gewebes und am 4. Tage Auftreten einer «dorsalen Kerbe» aus unregelmäßigem Gewebe, die am 6. Tage wieder verheilt ist. Zugleich löst sich die normale Gewebsstruktur an der Spitze auf, und das ganze Regenerationsgewebe wird unruhig. In den folgenden Tagen greift diese Veränderung auf das ganze Regenerat über, das schließlich kein normales Gewebe mehr enthält, indem auch das Chordaregenarat aufgelöst ist. Bereits am 4. Tage, hauptsächlich aber vom 7. Tage an, stoßen sich Zellgruppen und Stücke der Regenerate ab, wodurch diese verkürzt werden. Am 11. Tage sterben die letzten Tiere.

D. Versuch mit 2000 r (vgl. Tafel IV)

Die vier Wochen alten Tiere (durchschnittliche Länge 18 mm; 2. Larvenstadium) werden mit 180 kV, 6 mA, bei 30 cm FWA*, 1 mm Cu mit 49,2 r/min während 40,8 Minuten bestrahlt. – Nach der Bestrahlung liegen einige bewegungslos auf der Seite und reagieren kaum auf Berührung. – Am 2. Tag sterben zwei Tiere, am 4. und 5. noch je eines an den unmittelbaren Folgen der Bestrahlung.

Bis zum 4. Tage haben sechs Tiere kleine, normal aussehende Regenerate um den Chordastumpf herum gebildet (entspricht 24stündigen Regeneraten der Kontrollen), das siebente beginnt jedoch erst am

5. Tag zu regenerieren. Bei den übrigen ist die Regeneration wenig fortgeschritten und erstreckt sich erst in einem Fall auch auf die Flossensäume, wogegen CH und NR auszuwachsen beginnen. Bei den Tieren Nr. 4, 5, 7 ist das Epithel der Regeneratsspitze rundzellig verändert. Nachdem die Tiere 48 Stunden im Wärmeschrank waren (vgl. «Material und Methodik») haben am

7. Tag alle der überlebenden sechs Tiere mit der Regeneration der Flossensäume begonnen. Die Regenerate sind bräunlich verfärbt, ihre Umrisse – außer bei Nr. 10 – unregelmäßig-zackig. Die Epidermis (besonders der dorsalen Seite) ist zerstört; das übrige Gewebe besteht größtenteils aus Rundzellen und enthält oft «Vakuolen» **. Die Chordaregenerate sind dorsal gekrümmt (vier Tiere), ihr Kaliber ist unregelmäßig und bei Nr. 5 und 7 im distalen Teil praktisch aufgelöst. Das Neuralrohr liegt der Chorda bei drei Tieren nicht mehr durchgehend an und ist erheblich pigmentiert, wie dies auf Abbildung 7 zu erkennen ist.

8. Tag. Die Regenerate sind stark ausgewachsen und an der Spitze sowie am dorsalen Flossensaum schollig degeneriert (vgl. Abb. 7 und Versuch mit 1500 r am 8. Tag, Seite 169). Unverändertes Regeneratsgewebe weist nur noch ein Teil des ventralen Flossensaums auf. Das Pigment hat sich um die Achsenorgane, deren Regenerate stark geschädigt sind, angesammelt.

9. Tag. Die Regenerate sind weiter gewachsen. Die Epithelzerstörung greift bei einem Tier auch auf den Stumpf über. Drei Tiere zeigen eine «dorsale Kerbe», welche am

10. Tag wieder zugeheilt, aber an der faserigen Streifung des Gewebes (Narbe) noch zu erkennen ist. Bei einem Tier hat sich die Regeneratsspitze demarkiert und wird abgestoßen (wie Abb. 13).

Bis zum 21. Tag, an welchem die letzten beiden Tiere sterben, schreitet die beschriebene Degeneration des Gewebes noch etwas fort; teilweise kommt es aber auch zu vorübergehenden Remissionen. Es stoßen sich noch mehrmals Teile der Regenerate ab, meist kleinere Zellgruppen, wodurch eine Verkürzung der Regenerate zustande kommt. Präterminal sind die Regenerate meist außerordentlich stark zerklüftet (vgl. Abb. 8a, 8b, 9 und 10).

Zusammenfassung

Die mit 2000 r bestrahlten Tiere (2. Larvenstadium) bilden erst am 7. Tag Regenerate an den Flossensäumen, der übrige Teil der Regenerate ist bräunlich verfärbt, hat unregelmäßige Konturen, das Gewebe besteht aus Rundzellen, enthält Vakuolen und die Chordaregenerate sind bei

* Vgl. Fußnote auf Seite 164.

** d. h. Stellen, wo das Gewebe nur noch einschichtig ist, vgl. Abb. 7.

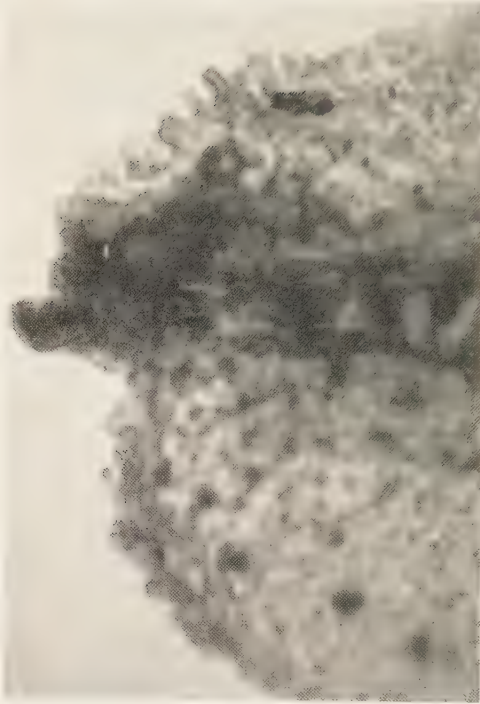


Abb. 8a

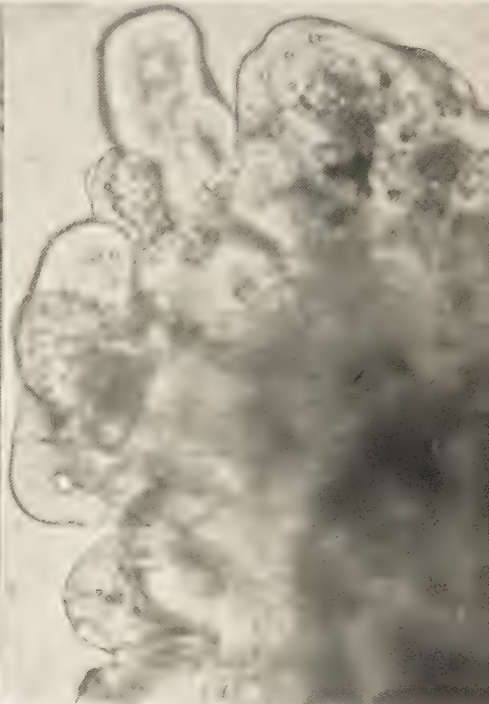


Abb. 8b

Abb. 8a. Starke Zerklüftung des Reg., 17 Tage nach Bestrahlung mit 2000 r (etwa 150fache Vergrößerung).

Abb. 8b. Detailaufnahme zu Abb. 8a. Man beachte die sich loslösenden Zellgruppen mit stark lichtbrechenden Einschlüssen. Vergrößerung etwa 1500fach.

(Diese beiden Aufnahmen stammen von zwei verschiedenen Tieren.)

zwei Tieren im distalen Teil aufgelöst. Das Neuralrohr liegt der Chorda nicht mehr durchgehend an und ist stark pigmentiert. Am 8. Tage starkes Wachstum, bei gleichzeitiger grobscholliger Degeneration des dorsalen Regeneratsteiles. Am 9. Tag weiteres Wachstum; die Epithelzerstörung greift jetzt bei einem Tier bis auf den Stumpf über. Drei Tiere zeigen eine «dorsale Kerbe». Vom 10. Tage an stoßen sich demarkierte Regeneratsstücke ab, was zu Verkürzungen führt. Diese Veränderungen schreiten weiter, zum Teil mit vorübergehenden Remissionen, bis am 21. Tag die letzten zwei Tiere sterben. Auch bei diesen Tieren sind CHR und NRR (besonders distal) weitgehend aufgelöst (vgl. Abb. 9); die Muskulatur hat nicht regeneriert (keine Querstreifung erkennbar).

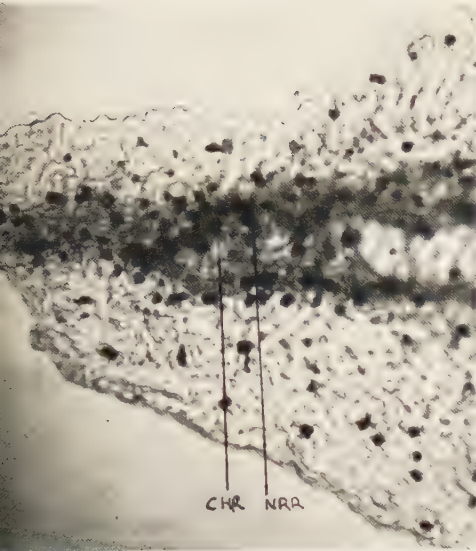


Abb. 9

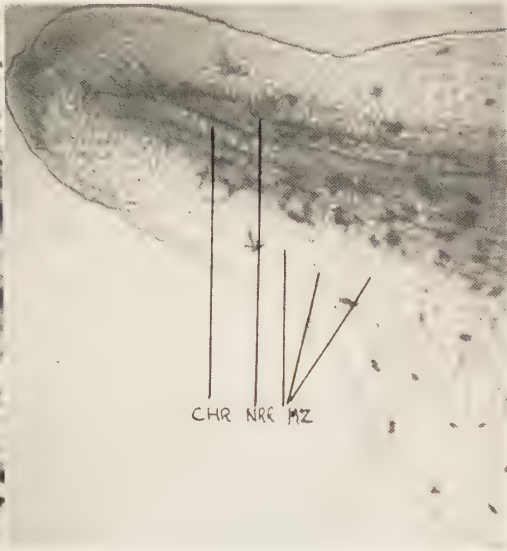


Abb. 10

Abb. 9. Zerstörung des dorsalen Epithels und der Reg. von CH und NR, die außerordentlich stark pigmentiert sind. Starke Gewebsunruhe. 21tägiges Reg. bei 2000 r.

(Vergrößerung etwa 150fach.)

Abb. 10. Fünftägiges Reg. von Kontrolle (unbestrahlt). Man beachte (im Gegensatz zu Abb. 9) das regelmäßige Epithel, die relativ geringe Pigmentierung der klar erkennbaren Achsenorgane, sowie die über das ganze Reg. verteilten Mesenchymzellen (M. Z.).

(Vergrößerung etwa 150fach.)

E. Versuch mit 3000 r (vgl. Tafel V)

Bei dieser Serie (Tiere 5 Wochen alt, 3. Larvenstadium, mittlere Länge 25 mm) wurde der FWA * von 30 cm auf 20 cm reduziert, um die Bestrahlung nicht allzulange auszudehnen (27,1 min. statt 60,1 min. und 110,7 r/min. statt 49,2 r/min.). Die Bestrahlung erfolgte wieder etwa sechs Stunden nach dem Schnitt und wurde gut ertragen.

1. Tag. Die Regeneration hat bei allen Tieren eingesetzt, in der Mehrzahl auch an den Flossensäumen. Die Nummern 3, 4, 6 haben ein aufgelockertes, rundzelliges Regenerationsgewebe mit zum Teil fehlender Epidermis (wie bei 1500 r, 1. Tag, nur ausgedehnter). Bei Nr. 8 wird die ganze Regeneratsspitze von einer rostbraunroten, stark lichtbrechenden Masse (Hämatom ?) ausgefüllt.

2. Tag. Die Regenerate sind gewachsen; in der Hälfte der Fälle ist auch die CH bereits ausgewachsen. Das NRR ist bei sieben Tieren kolbig aufgetrieben, bei Nr. 2, 5, 8 (vgl. Vortag) und 9 rotbraun verfärbt (Hämatom ?). Die Regenerate von Nr. 6 und 7 sind von zahlreichen Linien durchzogen, die Zellen aber normal, ebenso bei Nr. 3 und 4. Die Epidermis ist intakt.

* Vgl. Fußnote auf Seite 164.

3. Tag. Die Regeneration ist weiter fortgeschritten, die CH jetzt überall ausgewachsen und bei sieben Tieren nach dorsal gebogen oder verkrümmt. Sechs Tiere zeigen eine dorsale Kerbe (vgl. 1500 r, 4. Tag). Während Nr. 1 nur pathologische Strukturlinien aufweist, ist bei Nr. 2 und 3 der dorsale Regeneratteil in Auflösung; bei Nr. 8 und 9 besteht auch eine ventrale Kerbe und Spitzendegeneration.

4. Tag. Rasche Entwicklung der Regenerate; bei fünf Tieren ist bereits das Mesenchym mit seinen sternförmigen Zellen im Auswachsen. Die «dorsale Kerbe» ist verheilt mit Ausnahme des verkrüppelten Regenerates von Nr. 9. Nr. 10 bildet ventral der CH kein Regenerat.

5. Tag. Das Epithel aller Tiere hat sich in Rundzellgewebe umgewandelt, das von zahlreichen verschnörkelten Linien durchzogen scheint. Die Regenerate sind zwar noch gewachsen, zum Teil aber bis zu einem Drittel schmaler geworden (Schrumpfung?).

6. Tag. Der epitheliale Zellverband ist bei den meisten Tieren wiederhergestellt; die Regenerate der Nr. 2, 7, 8 weisen aber tiefe, radiär verlaufende Einrisse der Flossensäume sowie zahlreiche längs verlaufende geschlängelte Strukturlinien auf. Die CHR der Tiere 1, 2, 3, 9 sind geschädigt (Tier Nr. 10 vgl. Abb. 11).

7. Tag. Die Regenerate der Tiere 2, 3, 4, 5, 9, 10 zeigen teils sägeblattartige Umrisse, teils schollige Degeneration des Gewebes, besonders dorsal. Die Spitze von Nr. 6 hebt sich vom übrigen Gewebe deutlich ab.

8. Tag. Das Regenerat Nr. 2 hat sich, wahrscheinlich durch Schrumpfung, um mehr als die Hälfte verschmälert; das Gewebe der übrigen ist ruhiger geworden, Mesenchym-

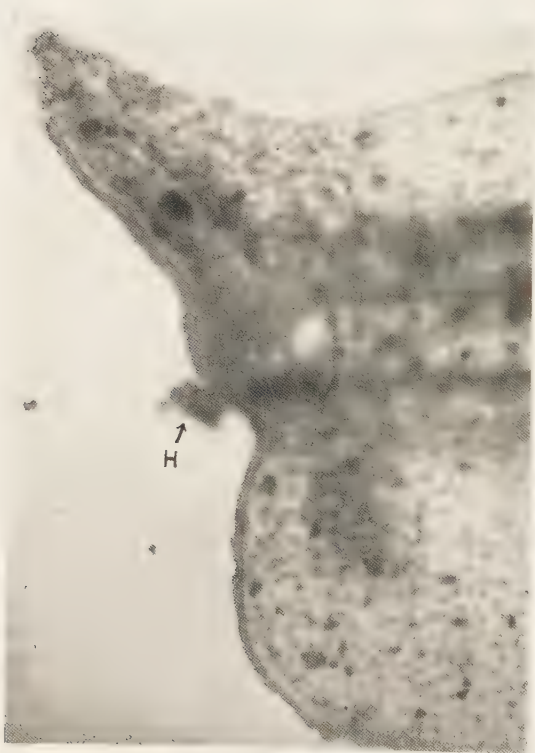


Abb. 11. Tier Nr. 10 sechs Tage nach der Bestrahlung mit 3000 r. Kleines, nach dorsal abgewinkeltes Regenerat, das nur im Bereiche des dorsalen Flossensaumes entwickelt ist. Ventral des CHR kein Regenerationsgewebe. Teilweise schollige Gewebedegeneration sowie dorsale Kerbe im Bereiche des Regenerates. Hämatom (H) aus der ventralen Schwanzarterie. (Vergrößerung etwa 150fach.)

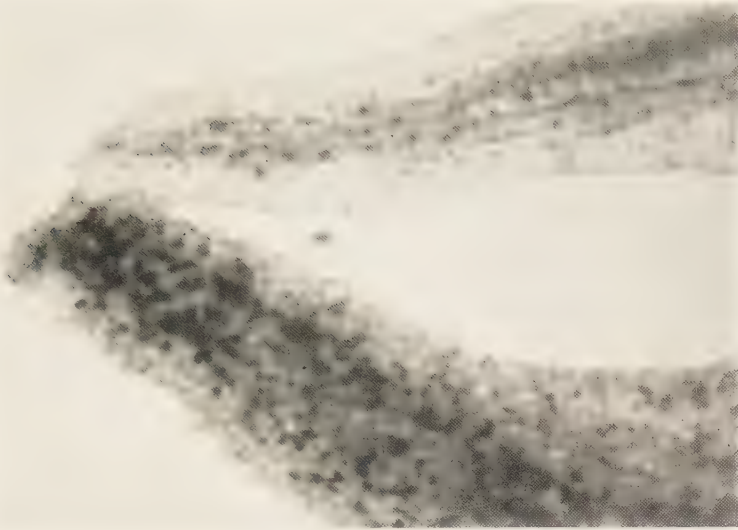


Abb. 12. Zehntätiges Regenerat von Kontrolltier (oben), und mit 3000 r bestrahltem Versuchstier (unten). (Vergrößerung etwa 50fach.)

zellen sind aber nicht mehr erkennbar. Die CHR der Tiere 1–5 sind weitgehend aufgelöst, bei allen vom Chordarest scharf abgegrenzt, sowie verkrümmt und unregelmäßig im Kaliber. Das Regenerat von Nr. 9 hat sich normalisiert. Bei Nr. 6 hat sich die Regeneratsspitze abgelöst, und das Tier stirbt. Bei Nr. 4 und 8 ebenfalls beginnende Rückbildung (Reduktion) der Regenerate.

9. Tag. Die Spitzen sämtlicher Regenerate weisen leicht gezackte Konturen auf; sie sind bräunlich verfärbt und das Gewebe besteht aus den bereits bekannten (vgl. 1500 r, 1. Tag) blasigen, locker gefügten Zellen. Die CHR sind am proximalen Ende stark verkrümmt, am distalen, auch bei Nr. 7–10, in Auflösung.

10. Tag. Die Regeneration als solche ist beendet. Es bestehen aber noch starke Veränderungen des Gewebes. Die Epidermis fehlt, die Umrisse sind gezackt; auch die CHR weisen Risse und Verkrümmungen auf, sofern sie noch nicht aufgelöst sind (vgl. Abb. 12). Tier Nr. 3, welchem am 9. Tage wegen Unfall der Schwanz proximal der ursprünglichen Schnittstelle reamputiert wurde, zeigt jetzt dasselbe Bild wie die übrigen Tiere: die Schnittfläche ist nicht epithelisiert, sondern zackig durch die schollig-rundzellige Degeneration des ganzen Gewebes.

12.–18. Tag. Die Regenerate verkürzen sich mehr und mehr durch Abstoßung von Zellen und Zellgruppen (vgl. 2000 r, 10. Tag), bis die Tiere sterben. Die Umrisse nehmen teilweise groteske Formen an, obwohl zwischendurch wieder scheinbare Remissionen auftreten. Am 18. Tag Tod der letzten Tiere. *

Zusammenfassung

Bis zum 5. Tage entwickeln sich die Regenerate der mit 3000 r bestrahlten Tiere rasch. Am 1. Tage vorübergehende Rundzellentartung



Abb. 13. Tier Nr. 9, Regenerat 14 Tage nach Bestrahlung mit 4000 r. Die äußerste Spitze des Regenerates ist im Begriffe, sich abzulösen. Man beachte die starke dorsale Pigmentierung. (Vergrößerung etwa 150fach.)



Abb. 14. Gleiches Tier, äußerste Schwanzspitze bei etwa 750facher Vergrößerung.

bei einzelnen Tieren und kolbige, zum Teil braunrot verfärbte Auftreibungen des Neuralrohrendes. Am 3. Tage tritt bei einer andern Gruppe von Tieren eine Gewebszerstörung auf. Am 4. Tage weitgehende Ausdifferenzierung und Normalisierung des Gewebes. Am 5. Tage Auflösung des Epithels in Rundzellen, die am 6. Tage abnimmt, wogegen sich jetzt Risse und Längslinien in den Regeneraten zeigen. Am 7. Tage werden die Umrisse sägeblattähnlich. 8. Tag: Das Gewebe hat sich wieder beruhigt, ist aber strukturarm. In der Folge immer stärkere Zerstörung des Gewebes. Es kommt zu Verschmälerungen und Verkürzungen infolge Abschlüpfung von Zellgruppen und demarkierten Teilen. Dazwischen wieder Remissionen. Am 18. Tag Tod der letzten Tiere, die weitgehende Zerstörung von Epithel, CHR und NRR zeigen.

F. Versuch mit 4000 r (vgl. Tafel VI)

Wie beim vorhergehenden Versuch erfolgt die Bestrahlung der Tiere (Alter 7 Wochen, 3. Larvenstadium, durchschnittliche Länge 30 mm) ebenfalls mit 20 cm FWA * und 110,7 r/min = 36,1 min Bestrahlungsdauer und 180 kV, 6 mA.

1. Tag. Mit Ausnahme der Tiere Nr. 1 und 2, welche munter sind, wurde die Bestrahlung schlecht ertragen. Drei Tiere sterben, und die andern liegen regungslos auf der Seite. Ihre Regenerate sind deutlich kleiner als die der Kontrollen, weisen aber keine Besonderheiten auf.

2. Tag. Der Zustand von fünf Tieren ist noch so schlecht, daß auf ihre Beobachtung verzichtet werden muß. Die Regenerate von Nr. 1 und 2 sind ohne Besonderheiten.

3. Tag. Die Tiere haben sich von den unmittelbaren Bestrahlungsfolgen erholt. Mit Ausnahme von Nr. 9, das Veränderungen wie die Tiere von 1500 r am 1. Tage zeigt, ist das Gewebe regelmäßig und die Regeneration auch an den Flossensäumen gut fortgeschritten. CH und NR beginnen auszuwachsen.

4. Tag. Nr. 1 und 2 zeigen bereits ein Vordringen der Mesenchymzellen. Bei Nr. 3 und 9 dagegen beginnt das Gewebe um das Chordaregenerat zu degenerieren; bei 9 ist auch die Epidermis der Regeneratsspitze geschädigt. Die andern weisen pathologische Strukturlinien und unruhiges Gewebe auf.

5. Tag. Tier Nr. 9 hat sich erholt, während bei Nr. 3 das Epithel der ganzen Dorsalseite des Regenerates fehlt und an der Spitze in Auflösung ist. Die übrigen Regenerate sind zwar gewachsen, aber unruhiger als am 4. Tage. Es sind keine Mesenchymzellen mehr zu erkennen.

6. Tag. Bei allen Regeneraten sind das Gewebe, wie auch die Achsenorgane, besonders dorsal und an der Spitze im Zerfall begriffen. Tier Nr. 3, das seit dem 4. Tage nicht mehr gewachsen ist, und Nr. 10 sterben. Beide hatten ein sehr strukturarmes Gewebe.

7. Tag. Bei vier der überlebenden fünf Tiere ist das Gewebe stark gelockert und mit Komplexen von Rundzellen durchsetzt. Mehrere Tiere weisen dorsal der Chordaregenerate, welche stark verkrümmt und ungleichmäßig, aber wieder deutlich erkennbar sind, zu Ballen zusammengelagertes Pigment auf.

* Vgl. Fußnote auf Seite 164.

8. Tag. Bei zwei Tieren hat sich das Regenerat bis zu 0,3 mm verkürzt. Nr. 2 und 5 weisen eine diffuse, braune Trübung auf, innerhalb welcher keine deutliche Zellstruktur oder -differenzierung mehr erkennbar ist. Das Epithel ist aber völlig intakt. Bei allen vier Tieren ist das CHR wieder in Auflösung begriffen.

9. Tag. Das Gewebe verhält sich wie am Vortage. Die Regenerate sind wieder gewachsen. Drei Tiere sterben, weshalb der Versuch abgebrochen wird. Tier Nr. 9 überlebt noch bis zum 14. Tage (vgl. Abb. 13 und 14). Die Muskulatur hat nicht regeneriert; CHR und NRR sind kaum zu erkennen.

Zusammenfassung

Die Bestrahlung mit 4000 r wird mit zwei Ausnahmen schlecht ertragen. Drei Tiere sterben am 1. Tage. Am 3. Tage haben sich die Tiere erholt, die Regeneration ist normal. Am 4. Tage bei den unmittelbar Strahlengeschädigten Gewebsunruhe; die nicht betroffenen dagegen haben voll ausdifferenziertes Gewebe. Am 6. Tage ist das Regenerationsgewebe allgemein im Zerfall begriffen; die Achsenorgane sind mitbetroffen, die Epidermis aber intakt. Am 7. Tage Umwandlung des Epithels in Rundzellgewebe. Am 8. Tag überleben noch vier Tiere, deren Regenerate Zeichen einer starken Schädigung aufweisen, jedoch die Epidermis nicht abstoßen. Am 9. Tage sterben drei Tiere, ohne sich stärker verändert zu haben, womit der Versuch abgebrochen wird. CHR und NRR sind schwer erkennbar; die Muskulatur hat nicht regeneriert.

III. Versuchsergebnisse und Diskussion

In allen Versuchsserien wurde nach der Bestrahlung zunächst ein Auswachsen der Regenerate beobachtet. Weder nach 3000 r noch nach 4000 r konnte ein totaler Regenerationsstopp gesehen werden, wie dies *Schere-metjewa* und *Brunst*¹⁰ angeben, wohl aber eine Regenerationsverlangsamung. Mit Ausnahme des Versuches mit 1000 r traten vom ersten Tage an Gewebs- und Zellveränderungen auf, welche sich anfänglich wieder zurückbildeten, um am 4.-5. Tage wieder zu erscheinen, allmählich das ganze Regenerat ergriffen und in längstens 18 Tagen den Tod sämtlicher Tiere herbeiführten. Diese Veränderungen bestanden anfänglich aus Nestern und Gruppen abgerundeter, vergrößerter Zellen im Zentrum des auswachsenden Regenerates, welche nicht in epitheliale Verbande standen und stark lichtbrechende Einschlüsse verschiedener Größe enthielten (die Zellkerne waren nicht mit Sicherheit erkennbar); nach einigen Tagen waren sie besonders in der Regeneratspitze und im dorsalen Flossensaum lokalisiert, wo sie bei starker Ausbreitung zum Phänomen der «scholligen Degeneration» des ganzen Epithels in einem Abschnitte

führten, wobei die Zellen in getrennten Gruppen beisammenlagen (eben den «Schollen»). Der ventrale Flossensaum regenerierte meistens längere Zeit normal und zeigte erst gegen das Ende hin auch Veränderungen, was dafür spricht, daß die lokale Strahlenschädigung auf der dorsalen Seite stärker ist, wie auch von *Scheremetjew* und *Brunst*¹⁰ zur Erklärung der von ihnen beobachteten Dorsalkrümmung der Regenerate (die wir jedoch nicht mit Sicherheit nachweisen konnten) angenommen wurde. In einer weiteren Phase kam es auch zur Reduktion resp. zum Abbau der bereits gebildeten Regenerate von Chorda und Neuralrohr, verbunden mit verstärkter Pigmentierung, sowie diffuser, brauner Trübung des Gewebes und Zusammenballung der Melanophoren (besonders bei den Dosen 3000 r und 4000 r); dazu kam eine eigentliche Zerstörung, resp. außerordentliche, starke Auflockerung des Epithels (die normalen Epithelzellen wurden durch die oben erwähnten pathologischen Zellen ersetzt), so daß schließlich einzelne Zellgruppen und ganze Stücke der Regenerate sich lösten; zuweilen entlang einer schon am Vortage sichtbaren «Demarkationslinie». Die Regenerate wurden dadurch reduziert; es zeigten sich zahlreiche, dicht mit Zellen angefüllte oder auch nur blasige Ausstülpungen, wobei sich immer losgelöste Zellen oder Zellgruppen beobachten ließen. Diese Phase der Reduktion begann zwischen dem 7. und 9. Tage und ist möglicherweise vergleichbar der von *Brunst* und Mitarbeitern³ (die allerdings bereits ausgebildete Regenerate von Amphibien lokal bestrahlt hatten) 1951 beschriebenen «acute primary reaction», welche im wesentlichen charakterisiert wird durch Epitheldegeneration, Reduktion der Pigmentschicht, resp. Pigmentzusammenballung und -degeneration, Auftreten von Makrophagen mit mannigfaltigen Einschlüssen.

Nach dem 10.–14. Tage normalisierte sich bei den noch überlebenden Tieren das Gewebe wieder etwas (es blieben aber stets Zeichen einer starken Schädigung bestehen); die Regenerate behielten ihre Wachstumsfähigkeit mit wenigen Ausnahmen bis zum Absterben der Tiere bei.

Über den Unterschied der Effekte nach Bestrahlung mit verschiedenen Dosen unterrichtet Tabelle 1. Daraus ist ersichtlich, daß die Strahlenschädigungen ihrem Wesen nach dieselben sind und daß lediglich graduelle Unterschiede bestehen zwischen den einzelnen Dosen (mit Ausnahme von 1000 r, wo praktisch keine Gewebsveränderung auftritt).

Auf Grund dieser oft nur geringfügigen und sich teilweise überschneidenden Unterschiede einen Test aufzubauen, dürfte sehr schwierig sein, da nach den vorliegenden Versuchen auch eine recht verschiedene individuelle Empfindlichkeit der einzelnen Tiere angenommen werden muß.

TABELLE 1
Unterschiede der Effekte verschiedener Strahlendosen und Zeitablauf

Tag	Kontrollen	1000 r	1500 r	2000 r	3000 r	4000 r
1	Wunde epithelisiert. Kl. Reg. Regelmäß. Epith.	Wie Kontrollen.	Kl. Reg. um CHSt. Rundzellnester unregelm. Wundep.		Kl. Reg. auch an d. Flossens. Gewebe rundzellig.	Bestr. wird schlecht ertragen. Kl. norm. Regenerate.
2	Reg.-Beginn an den Flossensäumen.	Reg. beim CHSt. wachs. spitz aus. Fls. regenerieren.	Reg. ± o. B. Fls. reg., ebenso CH und NR	Bildung von kleinen, normal aussehenden Regeneraten um den CH-Stumpf.	Reg. wachs. ± o. B. Beg. d. CHR.-Hac- matome am NR-Ende unmöglich.	Tiere in schlecht. Zustand. Beobacht. unmöglich.
3	Auswachs. v. CH u. NR, ± verkrümmt, aber deutlich.	CHR u. NRR unklar.	Path. Strukt. lin. Rundzellentartig.	CH-Stumpf. Mesenchymzellen auswachs.	Alle CHR vorhand. D. K. oder V. K., Fls. in Auflösung.	Gew. regelm. Fls. haben reg. CHR und NRR ausgewachsen.
4	Gew. ruhig. Auftr. von Melanophoren CHR u. NRR regelm. und NRR klar.	In 4 Reg. Sp. Rundzellen. CHR und NRR klar.	Dorsale Kerbe. Übr. Gew. ± un- ruhig.		Gew. ruhig. D. K. verheilt. M. Z. ausgewachs.	Gew. unruhig. Gew.-deg. um CHR. M. Z. ausgewachs.
5	Mesenchymzellen auswachs.	nicht beobachtet.	nicht beobachtet.	Reg. wenig größer. CH und NR wachs. aus. Sp. rundzellig.	Verschmälung und Rundzelldeg. aller Regenerate.	Gewebe unruhig. Dors. fehlt Epith. bei einem Tier.
6	Gew. regelmäßig, CHR und NRR ge- rade. Reg. beendet.	M. Z. ausgewachs. Gew. o. B. Reg. i. G. beendet.	D. K. narbig ver- heilt. Sp. wird rund- zellig.	nicht beobachtet.	Gew. unruhig. Ra- diäre Einrisse. path. Strukturlinien.	Gew. von d. Fls. u. Reg. Sp. rundz. (CHR und NRR zerfallend.
7			Reduktion. Ganzes Reg. rundzellig.	Fls. haben reg. Reg. bräunlich. Unrisse zackig. (CHR und NRR zerfallend Pigmentierung +++	Unrisse sägeblatt- artig. Gew. schollig degeneriert.	Gew. voll Rundz. locker. CHR unreg. klar erkennbar. Pigmentballung.

8	Grenze des Reg. nicht mehr zu erkennen.	Schollige Deg. des Gewebes.	Wachstum++++ Dors. schollige Deg. Pigmentballung.	Gew. ruhiger. CHR u. M. Z. in Aufl. <i>Reduktion</i> beg.	<i>Reduktion.</i> Gew. trübe. Epithel intakt. CHR in Auflösung.
9		Umrisse zerklüftet. CHR aufgel. (Gew. rundzellig.	Gew. unruhig. D. K.	Reg. bräunlich, rundzellig.	Tod der letzten Tiere.
10		wie Vortag.	Fortschreitende Degeneration und <i>Reduktion.</i>	Umrisse zackig. Epithel fehlt. Reg. beendet.	-
n	18. T.: Reg.-grenze deutlich. Reg. schmal.	11. Tag: Tod der letzten Tiere.	18. Tag: Tod der letzten Tiere.	Fortschreitennde <i>Reduktion.</i> 18. Tag: Alle Tiere tot.	

Abkürzungen

Bestr.	= Bestrahlung	NR	= Neuralrohr
CH	= Chorda	NRB	= Neuralrohrregenerat
CHR	= Chordaregenerat	o. B.	= ohne Besonderheit
CHSt	= Chordastumpf	Reg.	= Regenerat, Regeneration
D. K.	= dorsale Kerbe	reg.	= regenerieren
Deg.	= Degeneration	Sp.	= Spitze
Epith. od. Ep.	= Epithel	M. Z.	= Mesenchymzellen
Fls.	= Flossensaum	T	= Tag
Gew.	= Gewebe	unreg.	= unregelmäßig
i. G.	= im Ganzen	V. K.	= ventrale Kerbe
kl.	= kleine		

Es müßte auch noch der Einfluß verschiedener Faktoren abgeklärt werden (zeitlicher Abstand zwischen Schnitt und Bestrahlung, geeignetstes Larvenstadium, günstigste Temperatur) und sodann unter den als optimal gefundenen Bedingungen die Versuche an einem größeren Material wiederholt werden, um statistisch eindeutig beweiskräftige Resultate zu erhalten.

Das interessante Phänomen der nach der Bestrahlung einsetzenden Regeneration und nachfolgenden Reduktion könnte verschieden gedeutet werden:

a) *Brunst*^{2, 3} beobachtete eine Reduktion bestrahlter Regenerate*, wobei er die gleichen Veränderungen wie *Cramer*⁴ an bestrahlten Mäusecarcinomen sah, und faßt sie wie dieser als Folge einer *aseptischen Entzündung* auf.

b) *Luther*⁸, welcher die Strahlenwirkung auf Amphibienhaut vor der Metamorphose studierte, beobachtete nach einer gewissen Latenzzeit eine völlige Degeneration und Auflösung des Epithels, was er auf *Hemmung der Mitosefähigkeit* zurückführt, womit die Reduktion erklärt wäre, nicht aber warum die Regenerate dennoch bei intaktem Epithel auswachsen und ihre Wachstumsfähigkeit trotz Reduktion beibehalten konnten; es sei denn, die Mitosen würden erst nach einiger Zeit und nicht vollständig eingestellt.

c) Die beobachtete Abrundung der Zellen sowie die damit verbundene Lösung aus dem epithelialen Verbande wie auch das plötzliche Schmälerwerden der Regenerate ließe sich durch eine nachträgliche *Störung im Wasserhaushalt* resp. der Permeabilität der Zellmembranen erklären (Quellung der Zellen).

d) Da die Regenerate ihre Wachstumsfähigkeit beibehalten und da die meisten der in den Endstadien sichtbaren Ausbuchtungen sehr zellreich sind, wäre auch an die Möglichkeit einer *Anregung des Wachstums* durch Bestrahlung (eventuell sogar im Sinne einer *canceroiden Entartung*) unter gleichzeitigem Verlust der Differenzierungsfähigkeit des Gewebes (Auflösung des epithelialen Verbandes sowie der Regenerate der Achsenorgane, Pigmentanomalie, nur kurzfristiges Auftreten der Mesenchymzellen bei höheren r-Dosen) zu denken.

Um diese Probleme zu deuten, bedarf es eingehender zytologischer und histochemischer Untersuchungen, die am hiesigen Institute im Gange sind.

* Er arbeitete mit Regeneraten von Urodelenextremitäten.

IV. Zusammenfassung

Es wird der Einfluß von Röntgenstrahlen (180 kV, 6 mA, 1 mm Cu) verschiedener Dosis (1000, 1500, 2000, 3000 und 4000 r) auf das Regenerationsvermögen des Schwanzes von *Xenopus*larven (Totalbestrahlung 6 Stunden nach Amputation) untersucht, und dabei folgendes gefunden:

1. Das Regenerationsvermögen bleibt nach der Bestrahlung, selbst mit einer Dosis von 4000 r erhalten: Die Zellen teilen sich weiter, und die Regenerate wachsen aus bis zum Tode der Versuchstiere.

2. Die Differenzierungsfähigkeit des Regenerationsblastems wird durch die Bestrahlung kaum gestört; Chorda, Neuralrohr und Flossensäume mit Blutgefäßen werden ausdifferenziert, nur die quergestreifte Muskulatur regeneriert praktisch nicht.

3. Die Regenerate sind teilweise verkleinert und ebenso setzt die Regeneration nach Bestrahlung besonders mit höhern Dosen langsamer ein.

4. Nach einer Latenzzeit von 0–5 Tagen nach Bestrahlung beginnt eine rundzellige Entartung des Regenerationsgewebes.

5. 7–9 Tage nach Bestrahlung bilden sich die Regenerate zurück, und das Epithel löst sich auf.

6. Abgesehen von den Gewebsveränderungen am Regenerat konnte an den totalbestrahlten Tieren keine Schädigung des normalen Körpergewebes festgestellt werden, doch starben bei den Versuchen mit 1500 bis 4000 r die meisten Tiere innerhalb 9–18 Tagen nach Bestrahlung. Die Ursache des Todes kann die Totalbestrahlung sein, verbunden mit dem Reiz der Amputation und den stetigen Narkosen.

7. Im Effekt der verschiedenen Strahlendosen besteht lediglich ein gradueller Unterschied, und die einzelnen Versuchsserien lassen sich nicht streng voneinander unterscheiden.

Summary

An investigation into the effect of X-rays (180 kV, 1 mm. Cu., 6 mA.) of various doses (1500, 2000, 3000 and 4000 r) on the regenerative power of the tail of *Xenopus* larvae (total irradiation, 6 hours after amputation), showed the following results:

(1) The regenerative power remains intact after the irradiation, even with a dose of 4000 r: the cells divide, and the regenerated parts continue to grow until the death of the animals.

(2) The faculty of differentiation of the regeneration mesoderm is little affected by the irradiation. The notochord, the neural groove, and the fins with blood vessels continue to differentiate; only the striated muscles do not, practically, regenerate at all.

(3) The regenerated parts are partly smaller, and regeneration commences slower after irradiation, especially with higher doses.

(4) After a latent period of 0–5 days after irradiation, a roundcelled degeneration of the regenerated tissue starts.

(5) 7–9 days after irradiation, the regenerated tissues regress, and the epithelium becomes necrotic.

(6) Apart from the tissue changes of the regenerated parts, the animals, after total body irradiation, did not show any obvious damage to the normal tissues of the body. However, in the experiments with 1500–4000 r the majority of the animals died within 9–18 days after irradiation. The death is probably due to the total irradiation, combined with the trauma of the amputation, and the various anaesthetics.

(7) The effect of the various radiation doses appears to be a gradual one, and the various experimental series cannot be strictly separated.

Résumé

L'auteur étudie l'influence de diverses doses (1500, 2000, 3000 et 4000 r) de rayons X (180 kV, 6 mA, 1 mm Cu) sur le pouvoir de régénérescence de la queue de larves du xenopus (irradiation totale 6 heures après l'amputation). Il fait les constatations suivantes:

1° La faculté de régénérescence se maintient après l'irradiation, même à la dose de 4000 r: les cellules continuent à se diviser et les moignons régénératifs croissent jusqu'à la mort des animaux.

2° Le pouvoir de différenciation du blastème régénératif est à peine altéré par l'irradiation; la chorde, le tube neural et les nageoires avec leurs vaisseaux se différencient; seule la musculature striée ne régénère pratiquement pas.

3° Les bourgeons régénératifs sont un peu plus petits et la régénérescence commence plus lentement après les irradiations, spécialement à fortes doses.

4° Après un temps de latence de 0 à 5 jours suivant l'irradiation, on observe une dégénérescence à cellules rondes du tissu régénératif.

5° 7 à 9 jours après l'irradiation, les bourgeons régénératifs se désintègrent et l'épithélium se désorganise.

6° Exception faite pour les altérations tissulaires survenues au niveau des bourgeons régénératifs, les animaux irradiés en totalité ne montrèrent pas d'attente des autres tissus; la plupart des animaux moururent cependant entre 9 et 18 jours après l'irradiation à des doses de 1500 à 4000 r. Cette mort peut être la conséquence de l'irradiation totale, s'ajoutant au choc de l'amputation et aux narcoses répétées.

7° L'action des diverses doses d'irradiation ne diffère par conséquent qu'en intensité, et les séries d'expériences ne peuvent être distinguées nettement les unes des autres.

Riassunto

Dallo studio dell'effetto di varie dosi (1500, 2000, 3000 e 4000 r) di raggi Röntgen (180 kV, 6 mA, 1 mm Cu) sulla capacità regenerativa della coda di larve di *xenopus* (irradiazione totale 6 ore dopo l'amputazione) risultano i seguenti fatti:

1° La capacità regenerativa rimane conservata anche dopo un'irradiazione con 4000 r. Le cellule continuano le divisioni; i regenerati crescono fino alla morte degli animali.

2° Non viene osservato quasi alcun disturbo della capacità di differenziazione del blastema regenerativo. Si riscontra differenziazione della corda, del tubo neurale e degli orli delle pinne con vasi sanguigni. Non si nota però regenerazione della muscolatura striata.

3° In parte i regenerati sono diminuiti. La regenerazione dopo irradiazione, specie con dosi più alte, dimostra un inizio più lento.

4° Dopo un periodo di latanza di 0 a 5 giorni dopo l'irradiazione inizia una degenerazione rotondocellulare del tessuto regenerativo.

5° 7 a 9 giorni dopo l'irradiazione si nota regressione dei regenerati e scomposizione dell'epitelio.

6° Non si potevano osservare lesioni del tessuto normale del corpo, oltre a quelli osservati nel tessuto regenerativo, degli animali irradiati totalmente. Negli esperimenti con 1500 r fino a 4000 r però la maggior parte degli animali venne a morte in un periodo di 9-18 giorni dopo l'irradiazione. La morte potrebbe essere dovuta all'irradiazione totale assieme all'irritazione dell'amputazione ed alle ripetute narcosi.

7° L'effetto delle varie dosi di raggi dimostra solamente una differenza graduale; le diverse serie sperimentali non possono essere distinti chiaramente l'una dall'altra.

Literaturverzeichnis

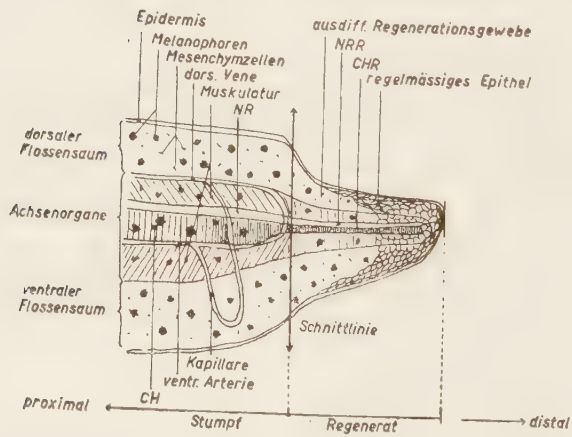
- ¹ Bretscher, A.: Rev. Suisse de Zoologie 56, 34, 1949. — ² Brunst, V. V.: Arch. f. Entwicklungsmech. 142, 668, 1944. — ³ Brunst, V. V., D. Barnett and M. S. Tigge Frank: Amer. J. Roentgen. 66, 420, 1951. — ⁴ Cramer, W.: Experimental observations on therapeutic action of radium. 10th scientific Report. Imp. Cancer Res. Found. 1932, 95. — ⁵ Lüscher, M.: Helv. Physiol. Acta 4, 465, 1946. — ⁶ Lüscher, M.: Rev. Suisse de Zoologie 53, 481, 1946. — ⁷ Lüscher, M.: Rev. Suisse de Zoologie 53, 683, 1946. — ⁸ Luther, W.: Naturwissenschaften 27, 713, 1939. — ⁹ Ochsé: Gynaecologia 126, 57, 1948. — ¹⁰ Scheremetjewa, E. A., und V. V. Brunst: Arch. Entwicklungsmech. 130, 771, 1933. — ¹¹ Weisz, P. B.: J. Morphology 77, 193, 1945.

Anhang

Tafel Nr.		vgl. Text Seite
I	Unbestrahlte Kontrolltiere	164
II	Versuch mit 1000 r	166
III	Versuch mit 1500 r	167
IV	Versuch mit 2000 r	171
V	Versuch mit 3000 r	173
VI	Versuch mit 4000 r	177

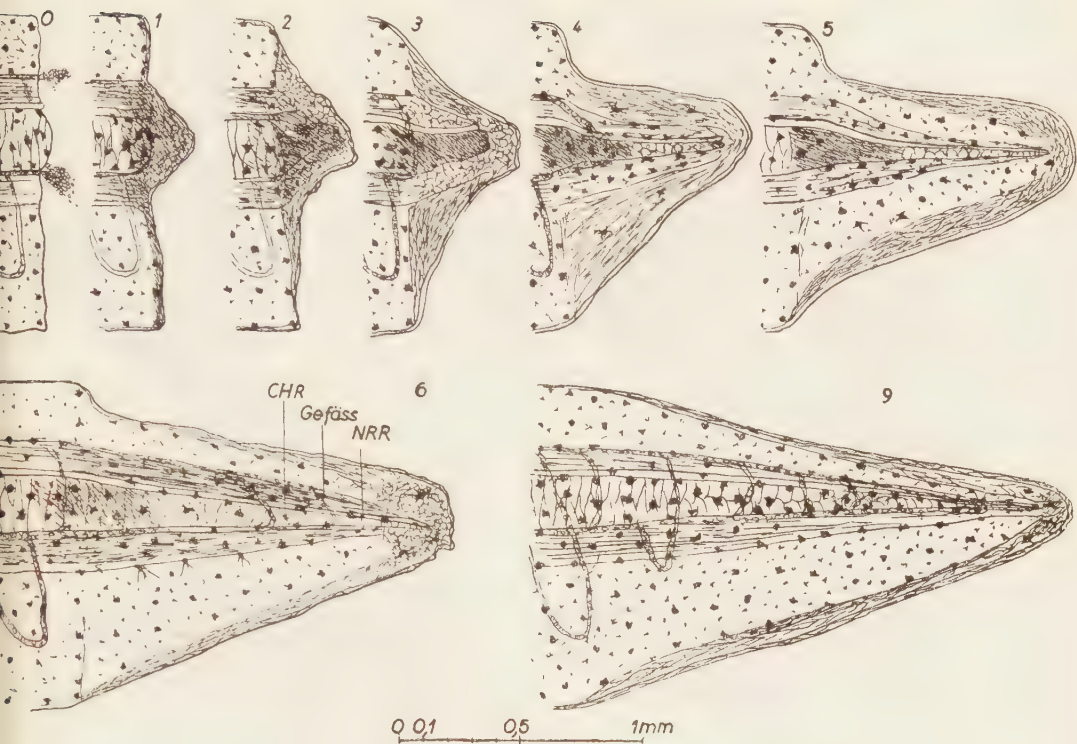
Die Zahlen in den Tafeln bezeichnen das Alter der Regenerate in Tagen.

Schema eines normalen Regenerates



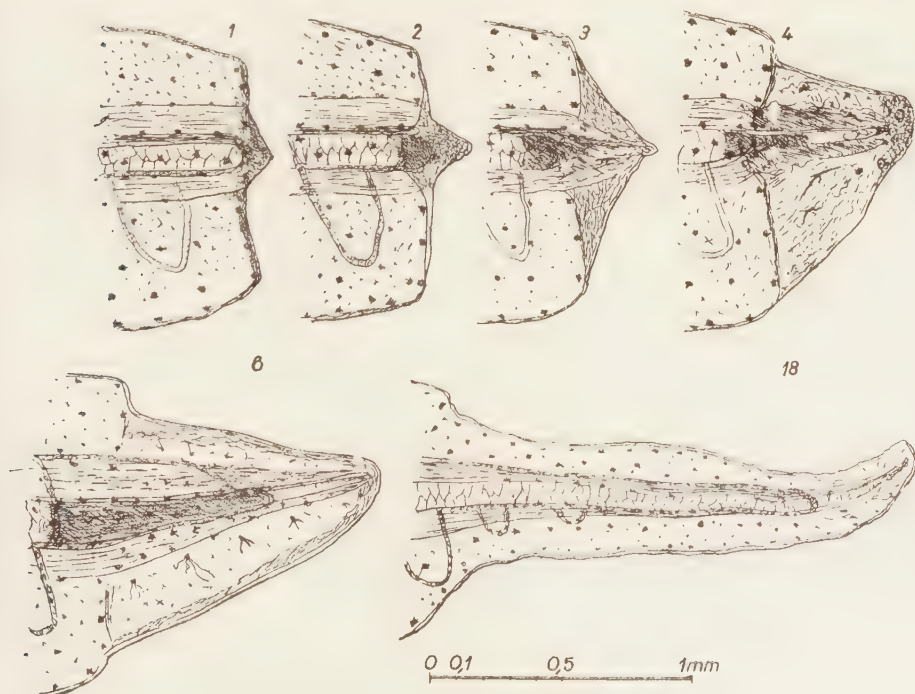
Tafel I. Unbestrahlte Kontrollen.

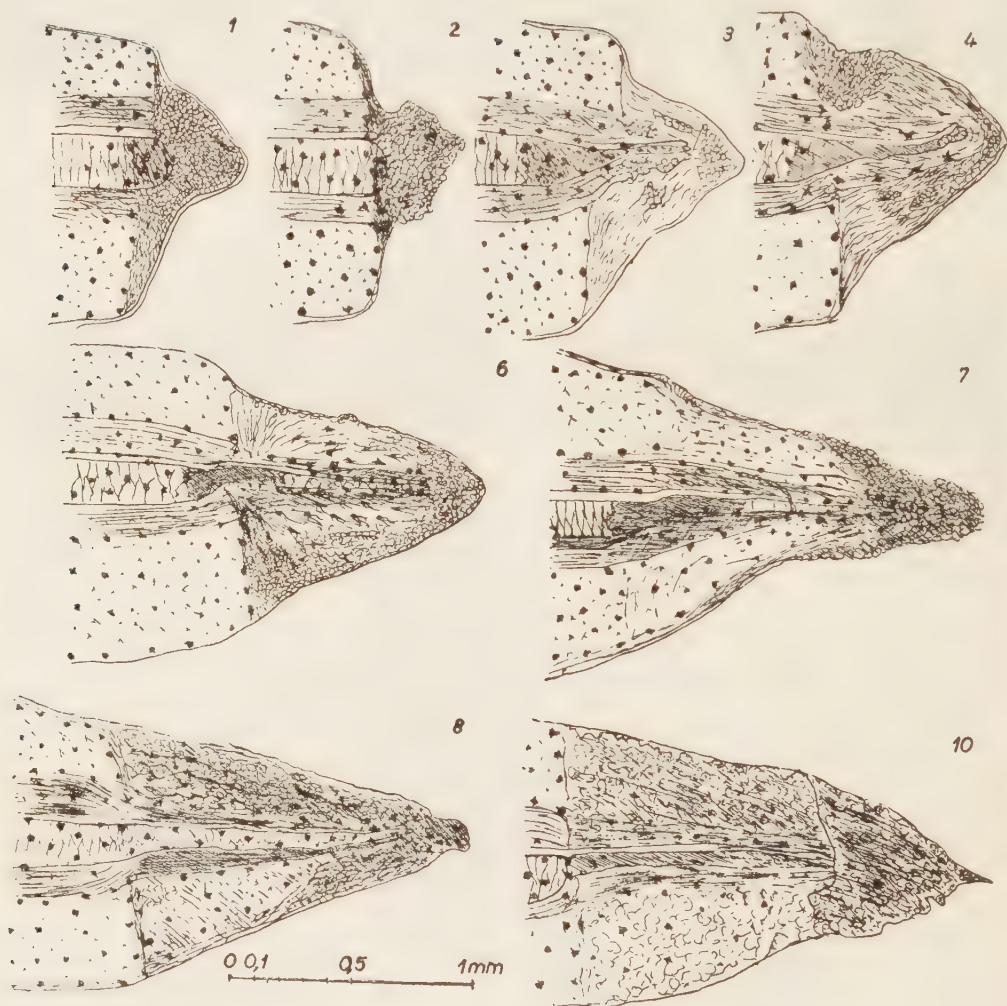
Zahlen bedeuten Alter der Reg. in Tagen.



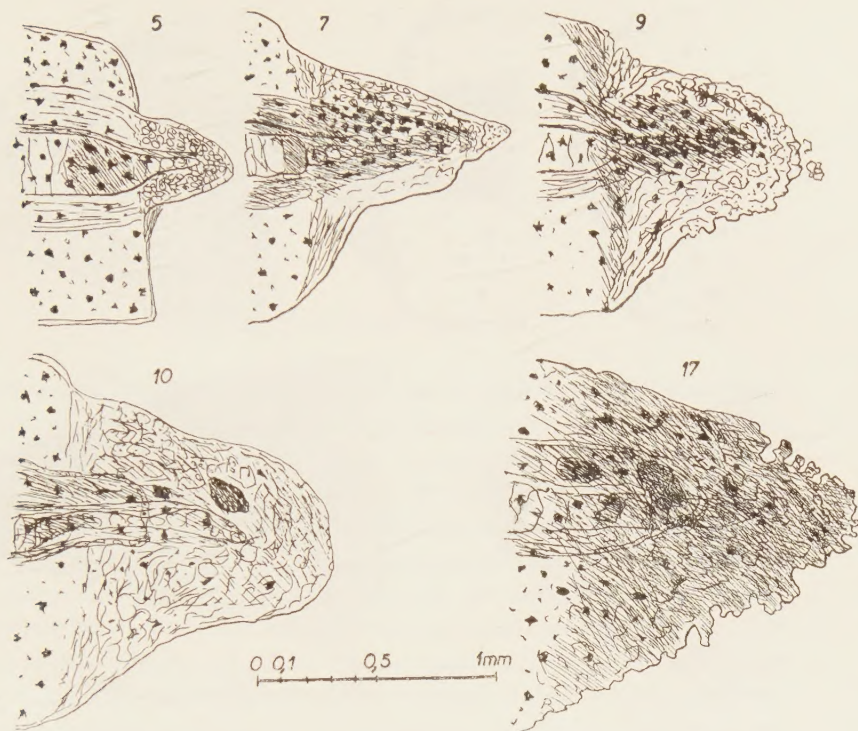
Tafel II. Versuch mit 1000 r.

Zahlen bedeuten Alter der Reg. in Tagen.





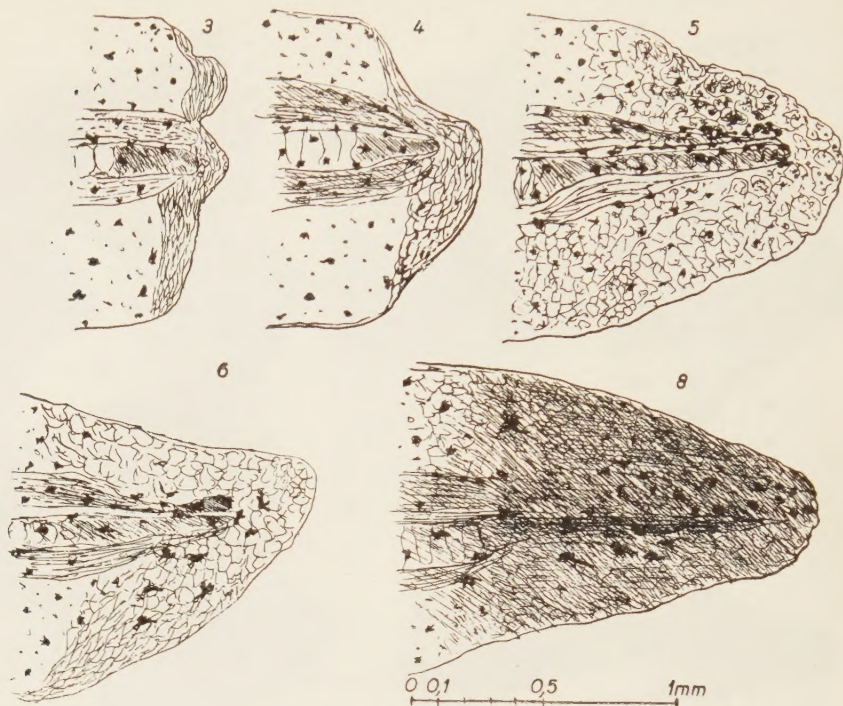
Tafel IV. Versuch mit 2000 r. Zahlen bedeuten Alter der Reg. in Tagen.



Tafel V. Versuch mit 3000 r.

Zahlen bedeuten Alter der Reg. in Tagen.





Curriculum vitae

Ich wurde am 26. Mai 1927 als Sohn des Dr. phil. Ernst Theodor Pestalozzi und der Verena, geb. Kutter, in Schaffhausen geboren. Im Jahre 1930 siedelten wir nach Zürich um, da mein Vater als Lehrer an die Höhere Töchterschule berufen wurde. Er starb 1936 durch einen Autounfall. – Nachdem ich die Freie Evangelische Schule besucht hatte, trat ich in das Literargymnasium der Kantonsschule Zürich ein, welches ich im Jahre 1947 mit der Maturität abschloß. Im darauffolgenden Wintersemester immatrikulierte ich mich an der medizinischen Fakultät der Universität Zürich, wo ich die beiden propädeutischen Examina innert der vorgeschriebenen Zeit mit Erfolg bestand. Nach vier Semestern klinischer Studien habe ich das obligatorische halbjährige Praktikum am Schwesternhaus vom Roten Kreuz (Chefarzt Prof. Dr. W. Gloor-Meyer) absolviert und habe im Frühjahr 1954 das Staatsexamen bestanden.

